

Aus dem Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie der Universität Rostock
(Direktor: Prof. Dr. A. BIENENGRÄBER)

Generalisierte Pigmentose durch Prontosil rubrum*

Von

HARTMUT SCHILL und WILLY BOSTELMANN

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 27. Dezember 1961)

Zweifellos ist unser Wissen auf dem Gebiet der Pigmentosen erheblich angewachsen, doch ist gerade bei exogenen Pigmentierungen mit dem Auftreten ungewöhnlicher Formen zu rechnen, die auf die zunehmenden Kontaktmöglichkeiten mit chromogenen Gewerbestoffen und diagnostischen bzw. therapeutischen Substanzen zurückgehen. Solche Pigmentierungen sind häufig keine einfachen Ablagerungen (wie die des Kohlenstaubes im Lungengewebe), sondern gehen eine mehr oder weniger enge Verbindung mit Eiweiß-, Kohlenhydrat- oder Fettstoffen ein (etwa nach Art des Eisens, der Karotinoide und der Flavine). Die dabei entstehenden Stoffgemische sind demnach als *exogen induzierte* bzw. *halbnaturliche Pigmente* anzusehen.

Im folgenden soll eine ungewöhnliche und bislang noch nicht beobachtete Pigmentose beschrieben werden, auf die wir bei einer Obduktion aufmerksam wurden und deren Reproduktion uns im Tierversuch gelang.

1. Klinisch-pathologischer Teil

Sektionsfall. 55jähriger Drogist. Angeblich Harnröhrenverletzung als Kind. Gonorrhoe im Alter von 28 Jahren (1933). Sechs Jahre später erstmalig akute Harnverhaltung, die in mehrjährigen Abständen noch einige Male auftritt und operatives Vorgehen (retrograde Bougierung, suprapubische Blasenfistelung) erfordert.

Zwei Monate vor dem Tode wird der Patient in gutem Ernährungszustand und ausreichendem Allgemeinzustand wiederum wegen einer akuten Harnverhaltung der Chirurgischen Universitätsklinik Rostock überwiesen. Multiple rezidivierende Abscedierungen im Bereich der äußeren und inneren Genitalorgane machen wiederholte operative Eingriffe notwendig. Bereits dem Chirurgen fällt dabei eine schwarz-graue Verfärbung der Beckenboden- und Bauchwandmuskulatur auf. — Tod an diffuser Peritonitis.

Von der Ehefrau des Verstorbenen konnten wir noch erfahren, daß der Patient nahezu über 20 Jahre ohne ärztliche Verordnung und Kontrolle *Prontosil rubrum* eingenommen hat. Genaue Angaben über die Dosierung konnten wir nicht ermitteln.

Die 10 Std nach dem Tode vorgenommene Obduktion (Sektions-Nr. 61/60) ergab folgende *makroskopische Organbefunde*:

Zustand nach mehrzeitigen operativen Eingriffen wegen postgonorrhoeischer Harnröhrenstriktur. Totaler narbiger Verschluß der Pars diaphragmatica urethrae und narbige Strikturen der Pars prostatica. Spontan ausgebildeter neuer Harnabflußweg im paraurethralen Gewebe unter Einbeziehung älterer Absceßhöhlen und Umgehung der Strukturen. Großer retrovesicaler Absceß mit phlegmonöser Pericystitis und Perforation in die Bauchhöhle. Frische diffuse, fibrinös-eitrige Peritonitis mit Enteroparalyse. Beidseitiges Samenblasenempyem, rezidivierende, vorwiegend linksseitige Funiculitis und beidseitige Epididymitis chronica fibrosa. Pyelogene Narben der Nieren.

* Herrn Professor Dr. WERNER HUECK zu seinem 80. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

Ungewöhnliche und sehr augenfällige *schwarz-braune Verfärbung* der gesamten mäßig atrophischen *Skelettmuskulatur* sowie der *Großhirnrinde* und der *Stammganglien*.

Mäßige allgemeine Anämie. Lipoideschwund der Nebennierenrinde. Mittelgradige Hirnschwellung. Mäßiges Lungenödem.

Mikroskopische Untersuchungsbefunde

Skelettmuskulatur. In allen untersuchten quergestreiften Muskeln der verschiedensten Körperregionen einschließlich der Zunge, des Kehlkopfes und des Zwerchfelles findet sich in

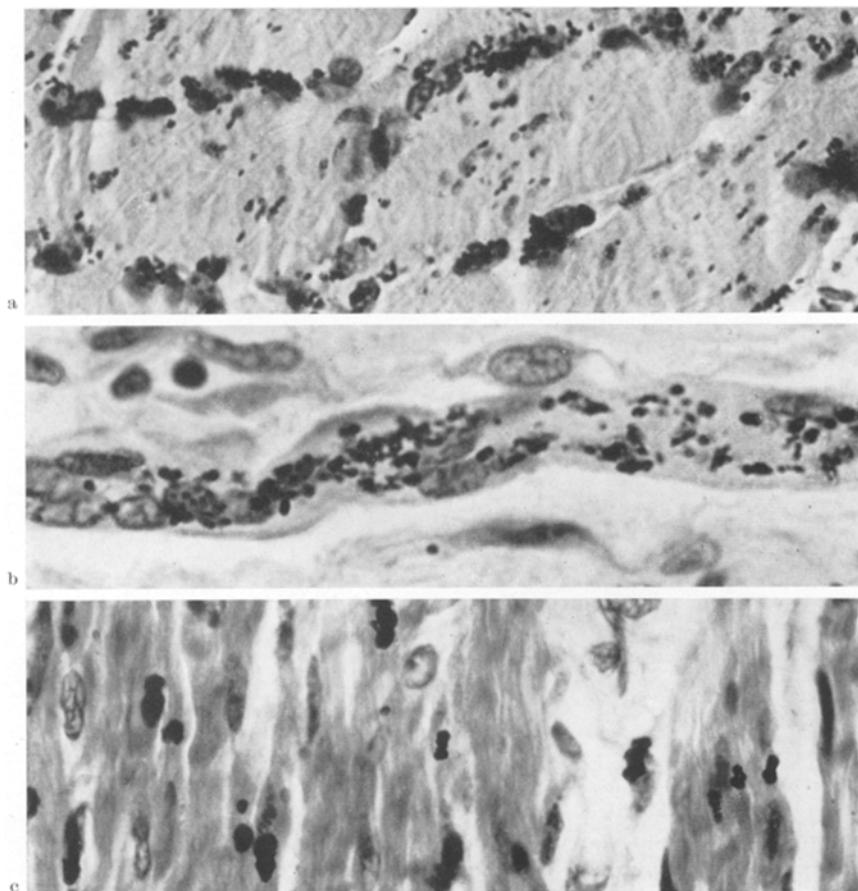


Abb. 1a—c. Muskulatur (Mensch). HE. a Querschnitt des M. erector trunci (680 \times). Pigmentschollen, besonders im Bereich der Kernpole; b pigmentbeladene atrophische Muskelfaser des M. psoas major (1020 \times); c Darmmuskulatur (680 \times). Grobkörnige Pigmentablagerung in den Muskelfasern

unterschiedlicher Stärke in den einzelnen Fasern ein dunkel- bis schwarzbraunes Pigment abgelagert. In feinkörniger Form (die einzelnen Pigmentkörnchen sind im Durchmesser bis zu 2 μm groß) ist es hauptsächlich zwischen den Föriilen lokalisiert, während sich Zusammenballungen der Pigmentgranula und auch Schollenbildungen besonders in Sarkolemmnähe über den Kernpolen zeigen (Abb. 1a). Letztgenannte Art der Farbstoffablagerung kommt hauptsächlich in degenerativ veränderten Muskelfasern zur Beobachtung, in deren Umgebung auch gelegentlich pigmentbespeicherte interstitielle Elemente auffallen. Kristalline Pigmentformen sind nirgends nachweisbar.

Neben der Pigmentose sind disseminierte, unterschiedlich stark ausgeprägte degenerative Veränderungen einzelner Muskelfasern, Faserbündel und auch ganzer Muskeln zu verzeichnen.

Es finden sich diffuse feintropfige Verfettungen, Faserverschmälerung, Hypochromie mit Kollaps des Sarkolemmeschlauches, Vermehrung der Sarkolemmkerne mit Kernkettenbildungen und granuläre Degeneration mit Aufhebung der Querstreifung. Einige wenige Muskeln, wie z.B. der Musculus psoas major, imponieren durch eine ausgesprochene postdystrophische Fibrose (Abb. 1 b).

Gehirn und Rückenmark. Besonders in den Ganglienzellen der Großhirnrinde und der Stammganglien finden sich reichlich gelb-braune und braun-schwarze Farbstoffkörnchen, die vorwiegend perinuklear angeordnet oder auch diffus über den Zelleib verteilt sind (Abb. 2). In einzelnen geschrumpften Ganglienzellen liegen die dunkelbraunen Pigmentgranula auch gelegentlich in Dendriten. Die Purkinjezellen sind deutlich weniger stark pigmentiert als

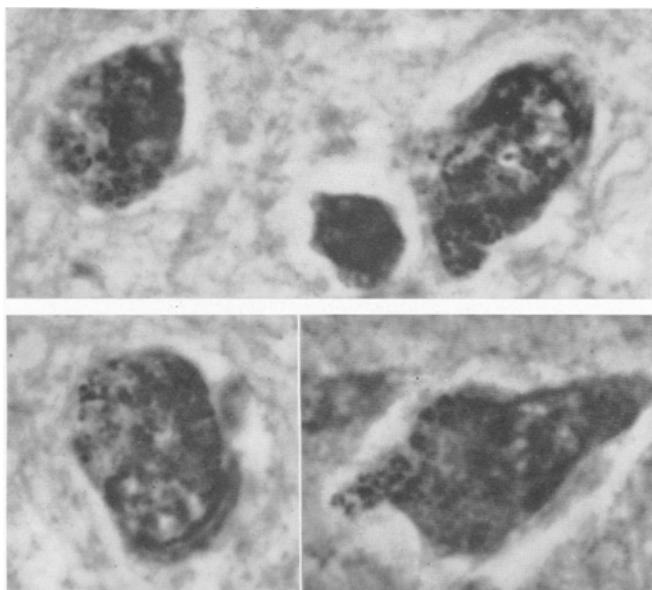


Abb. 2. Ganglienzellen des Großhirns (Mensch) mit groben dunklen Pigmentgranula. H.E., 1360 x. (Hellere graue Körnchen = Lipofuszin)

die Ganglienzellen der Großhirnrinde. Weitere Pigmentablagerungen, sogar in grobkörniger und scholliger Form, sind in adventitiellen Gefäßzellen der Großhirnrinde lokalisiert. Die Gliazellen, das Ependym und die Hirn- und Rückenmarkshüllen sind unpigmentiert.

Myokard. Besonders über den Kernpolen zeigen sich Ansammlungen von Pigmentkörnchen, die überwiegend eine gelb-braune und nur vereinzelt eine dunkelbraune Eigenfarbe zeigen. Eine diffuse Pigmentverteilung über das ganze Fasersyneytium ist nicht zu verzeichnen.

Niere. Sehr spärlich lassen sich in den Epithelien der Tubuli contorti granuläre und auch schollige Ablagerungen des dunkelbraunen Pigmentes nachweisen, das gelegentlich in desquamierten Epithelien in den Tubuluslichtungen liegt. Vereinzelt fallen homogene, bräunliche Cylinder auf, die keine Lepehne-Reaktion geben. Hin und wieder finden sich Oxalatkristalle, jedoch keine Sulfonamidkristalle. Im peritubulären Gewebe werden die Pigmentkörnchen von Histiocyten gespeichert. Einzelne pyelonephritische Narben.

Schilddrüse. In den kubischen Follikleipithelien erkennt man braun-schwarze Pigmentkörnchen, die stellenweise so dicht liegen, daß die Kernstrukturen überdeckt werden (Abb. 3), ferner reichlich, überwiegend grobscholliges Pigment im eingedickten Kolloid sowie vereinzelt auch in den parafollikulären Zellen und in histiocytären Elementen des perifollikulären Gewebes. Mäßige Sklerose des interfollikulären Bindegewebes.

Dünnd- und Dickdarm. In den Epithelien ist kein Farbstoff nachweisbar. Dagegen finden sich, besonders perivasal, reichlich dunkelbraune bis fast schwarze Farbstoffkörnchen und

-schollen intra- und extracellulär im Zottenstroma, in der Submucosa und vor allem auch (im Gegensatz zu allen übrigen untersuchten Organen mit glatter Muskulatur) als teils fein- bis grobkörnige Bestäubung in der Ring- und Längsmuskulatur (Abb. 1c und 4). Die Ganglienzellen des Plexus myentericus zeigen keine besonders auffällige Pigmentierung. Die Schleimhaut weist eine mäßige lymphocytäre und plasmacelluläre Infiltration auf.

Nebenniere. In der entfetteten Rinde fallen vor allem in der Zona glomerulosa und in der Zona fasciculata interstitielle, sowohl intra- als auch extracellulär gelegene Pigmentkörnchen bzw. -schollen von braun-schwarzer Eigenfarbe auf. In der Zona reticularis finden sich dagegen nur spärliche gelbbraune Pigmentablagerungen. Das Mark ist leider schon größtenteils autolytisch zerfallen, jedoch sind im Restgewebe keine nennenswerten Pigmentierungen erkennbar.

Leber. Die diffus fein- bis grobtröpfig verfettete Leber weist reichlich dunkelbraune Farbstoffkörnchen in den Kupfferschen Sternzellen und in mesenchymalen Elementen der periportalen Felder auf. In den Leberzellen ist zudem noch Lipofuscin nachweisbar.

Milz. In den Retikulumzellen und auch in den Sinusendothelien reichlich Pigmentkörnchen, die aber fast ausnahmslos eisenpositiv reagieren.

Häufiger finden sich die dunkelbraunen Pigmentkörnchen noch intracellulär im Interstitium des *Hodens* und, allerdings sehr spärlich, im Bereich der Alveolarsepten der *Lungen*. Andere Organe, wie *Haut*, *Trachea*, *Gefäße*, *periphere Nerven* und *Magen*, lassen eine erwähnenswerte Pigmentierung vermissen.

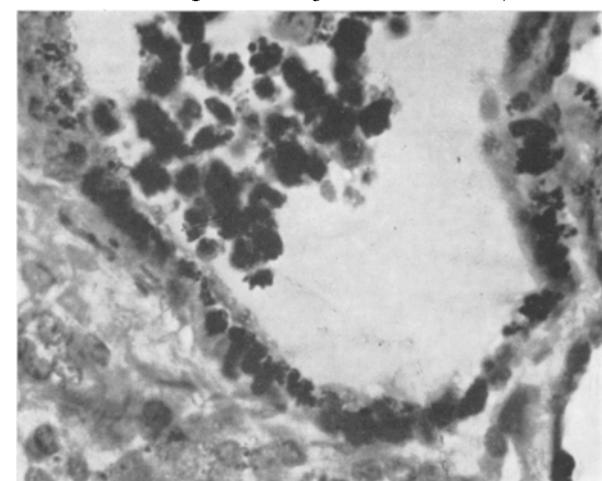


Abb. 3. Teilstück eines Schilddrüsenfollikels (Mensch). Feinkörnige Pigmentierung der Folliklepipithelien sowie grobe Pigmentschollen im Kolloid. HE., 680 ×

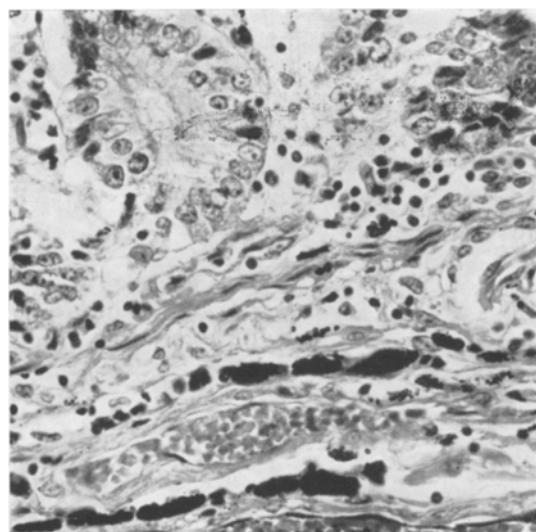


Abb. 4. Dünndarm (Mensch). Grobe Pigmentablagerungen in Bindegewebszellen der Submucosa und in Muskelfasern der Muscularis mucosae. HE., 340 ×

2. Experimenteller Teil

Zur Klärung der Genese dieser allgemeinen Pigmentose griffen wir den anamnestischen Hinweis eines Prontosilabusus auf und führten hochdosierte Prontosil-fütterungsversuche über längere Zeit bei Ratten durch.

Methodik

60 Albinoratten beiderlei Geschlechts von 100—150 g Körpergewicht ernährten wir während der Versuchszeit ausschließlich mit Morobrei, dem nach einer Gewöhnungswoche täglich 0,25 g Prontosil rubrum (4-Sulfonamid-2',4'-diaminoazobenzol) pro Tier zugesetzt wurde. Die Tötung der Ratten erfolgte in Wochenabständen. Die längste Fütterungszeit betrug 150 Tage. Ein Teil der Tiere wurde nach längerdauernder Fütterung mit Prontosil wieder auf Normalkost umgesetzt und nach 7 bis maximal 90 Tagen getötet. Zur Kontrolle fütterten wir 10 Ratten bis zu einem Jahr ausschließlich mit Morobrei ohne Prontosilzusatz.

Eine genaue Festlegung der tatsächlich aufgenommenen Prontosilmenge pro Tier ist wegen der unterschiedlichen Nahrungsaufnahme der einzelnen Ratten nicht möglich. Außerdem ist eine individuell unterschiedliche Resorption von Sulfonamiden bekannt. Es darf etwa eine durchschnittliche Dosis von 1,0—1,5 g/kg Körpergewicht und Tag angenommen werden.

Verhalten der Tiere und makroskopischer Befund

Das mit Prontosil gemischte Futter wurde von den Ratten nur widerwillig aufgenommen. Die Versuchstiere blieben in ihrer Entwicklung gegenüber Vergleichstieren zurück und magerten mäßig ab. Innerhalb der ersten 3—4 Wochen starben mehrere Tiere infolge akuten Nierenversagens. Bei den Überlebenden traten nach 6—8 Wochen unterschiedlich stark ausgeprägte Bewegungsstörungen bis zum Lahmen einzelner Tiere auf. Versuchstiere, die auf Normalkost zurückgesetzt wurden, nahmen wieder an Körpergewicht zu, während die nur mit Morobrei ernährten Kontrollratten normal gediehen und weder funktionelle Störungen noch Verfärbungen der Muskulatur oder der Organe boten.

Bei den Versuchstieren trat unter der Behandlung mit Prontosil eine deutliche Braunverfärbung der Muskulatur auf, die von der 4.—5. Woche an regelmäßig nachweisbar war. Eine Vergrößerung der Leber und der Milz sowie eine schwarzbraune Verfärbung der letzteren waren ständig zu beobachten. Auch das Gehirn bot von der 4. Woche an eine deutliche schmutzig-braune Verfärbung der Rinde und der Stammganglien, während das Mark stets weiß war. Die Verfärbung der Muskulatur blieb auch nach Absetzung der Prontosilfütterung erhalten und war nach 90 Tagen immer noch signifikant.

Muskulatur und Organe gaben im UV-Licht keine Autofluorescenz. Weder spektroskopische noch spektrophotometrische Untersuchungen im Bereich des sichtbaren Lichtes ließen am Rattenblut pathologische Veränderungen erkennen.

Mikroskopischer Befund

Muskulatur. Während in den ersten 3 Wochen an der Skelettmuskulatur kein auffälliger Befund zu erheben ist, findet sich von der 4. Woche an eine deutlich zunehmende Atrophie zahlreicher Muskelfasern mit Vermehrung und kettenartiger Aufreihung der Sarkolemmkerne. Daneben sind nach vierwöchiger Prontosilmedikation einzelne aufgequollene Fasern ohne nachweisbare Querstreifung und zum Teil mit körniger Trübung des Sarkoplasmas zu beobachten.

Mit zunehmender Versuchszeit fallen immer häufiger veränderte Muskelfasern auf, die über große Strecken keine Querstreifung mehr erkennen lassen und einen teils körnigen, teils scholligen Zerfall des Sarkoplasmas sowie vereinzelt auch große Vacuolen aufweisen (Abb. 5). Häufig sind streckenweise leere und kollabierte Sarkolemmsschläuche umgeben von Histiozyten zu beobachten. Herdförmige Zellproliferate kennzeichnen untergegangene Muskelfaserbezirke. Nach zehnwöchiger Prontosilbehandlung beherrschen umschriebene Histiozytenproliferate und körnig zerfallende Muskelfasern das Bild. Allerdings sind nicht alle Faserbündel gleichmäßig befallen, vielmehr finden sich neben schwer geschädigten auch wenig veränderte und teilweise unauffällige Muskelfaserbezirke.

Als Besonderheit tritt eine auffällige körnige, braune Pigmentierung der Muskelfasern hervor (Abb. 5), die bereits nach 3 Wochen in Form einer zarten Bestäubung vorzüglich entlang der Muskelfibrillen zu beobachten ist. Mit zunehmender Versuchsdauer tritt sie verstärkt und vergröbert in Erscheinung und ist vornehmlich im Bereich degenerativ veränderter Muskelfasern lokalisiert. Außer dieser körnigen Pigmentierung der Muskelfasern finden sich schollige und klumpige braune Pigmente im Cytoplasma der Histiocyten sowie hin und wieder extracellular im Interstitium.

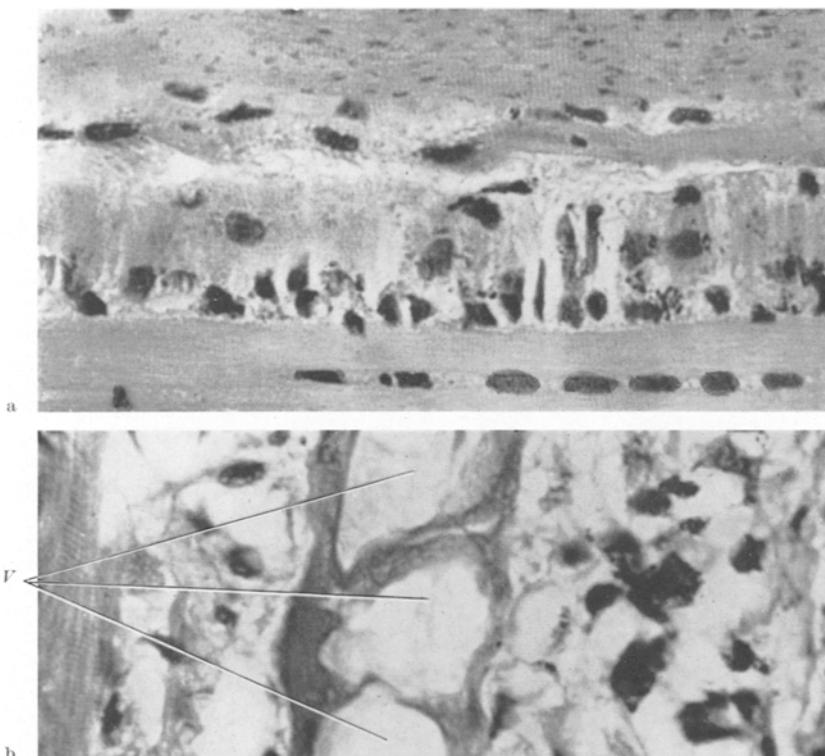


Abb. 5 a u. b. Skelettmuskulatur (Ratte, Längsschnitte). HE., 680 \times . a Nach 30tägiger Prontosil-fütterung: feine bis grobe granuläre Pigmentierung sowie körnig-scholliger Zerfall einer Muskelfaser; b nach 80tägiger Prontosilfütterung: Vacuoläre Dystrophie einer Muskelfaser und interstitielle Zellproliferation mit Pigmentspeicherung. V Muskelfaser mit Vacuolen

Nach Absetzung der Prontosilmedikation lässt sich die Pigmentablagerung in den Muskelfasern gleichartig, aber deutlich vermindert nachweisen. Zwölf Wochen nach der letzten Prontosilverabreichung sind disseminierte, durch lockeres Bindegewebe und Histiocyten ausgefüllte Muskelfaserlücken und nur noch vereinzelt frischere Faserdegenerationen zu verzeichnen. Das Pigment ist von Histiocyten phagocytiert oder feinkörnig in den Muskelfasern verteilt.

Auch der *Herzmuskel* bietet eine mit der Behandlungszeit zunehmende diffuse Pigmentierung der Muskelfasern, und zwar ausschließlich entlang den Fibrillen. Degenerative Faserveränderungen treten nicht auf.

Hirn. Während Grundsubstanz und Gliazellen keinen auffälligen Befund bieten, lassen Ganglienzellen aller Hirnabschnitte eine granuläre braune Pigmentierung erkennen, die mit zunehmender Prontosilfütterungszeit immer ausgeprägter und grobkörniger in Erscheinung tritt (Abb. 6). Die Pigmenteinlagerung findet sich nur im Cytoplasma der Ganglienzellen, und zwar zuerst peripher, später perinuklear angereichert, um dann schließlich den ganzen Zelleib bis in den Dendriten hinein auszufüllen.

Sind nach 3—4wöchiger Prontosilverabreichung nur verstreut pigmentierte Ganglienzellen nachweisbar — vor allem die großen Ganglienzellen der Kleinhirnkerngebiete, des Zwischenhirns sowie die Pyramidenzellen — so findet sich nach 20wöchiger Behandlung die überwiegende Zahl der Ganglienzellen, einschließlich der Purkinjezellen betroffen. Neben einer deutlichen Basophilie der pigmentierten Ganglienzellen sind zahlreiche geschrumpfte und teilweise von gliosen Elementen umlagerte Ganglienzellen zu beobachten (Abb. 6).

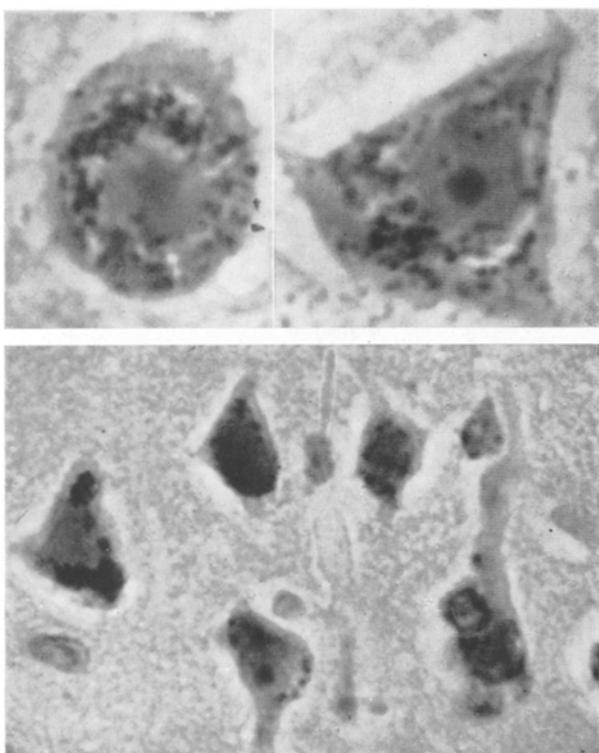


Abb. 6. Oben: Ganglienzellen des Mittelhirns der Ratte. HE, 2040 \times . Perinukleäre und diffuse Pigmentose (nach 40tägiger Fütterungszeit). Unten: Großhirnrinde der Ratte. HE, 1020 \times . Schrumpfung der schollig-pigmentierten Ganglienzellen (12 Wochen nach 60tägiger Prontosilmedikation)

liegen, das Bild (Abb. 7). Nur vereinzelt finden sich homogene braune Cylinder in den Sammelrohren. Nach vierwöchiger Prontosilfütterung treten bei einigen Tieren konzentrisch geschichtete Oxalatkristalle in den Lumina der Zwischenstücke und Sammelrohre auf, die jedoch später nicht wieder zu beobachten sind.

Ausgedehnte Tubuluszellnekrosen sind nach sechswöchiger Prontosilmedikation neben der braunen Pigmentierung der hervorstechende Befund. Auch fällt eine deutliche Aktivierung der Endothelien interstitieller Blutgefäße auf. Die Glomerula erscheinen durch zum Teil verquollene Capillarschlingen zellärmer. Beginnende Tubulusregenerationen und interstitielle Zellproliferate sowie eine deutliche Sklerosierung sind nach 85 Tagen bemerkenswert.

Nach Umsetzung der Tiere auf Normalkost ist das Fortbestehen der granulären braunen Pigmentierung in den Tubulusepithelien und im Interstitium noch nach 90 Tagen zu beobachten. Cylinder und Kristalle sind nicht nachweisbar. Bemerkenswert ist ein deutlicher Rückgang der Tubulusepithelschwellung und der Tubulusdilatation sowie eine unterschiedlich ausgeprägte Epithelregeneration.

Plexus chorioideus, Ependym und Gefäßwände sind ebenso wie die Gliazellen und das Neuropil pigmentfrei.

Nieren. Nach 14tägiger Prontosilfütterung ist eine feinkörnige braune Pigmentierung vorwiegend der Epithelzellen der Tubuli contorti erkennbar. Bei unauffälligem glomerulärem Apparat finden sich eine diffuse körnige Trübung der Tubuluszellen sowie Einzelzell- und Reihenzellnekrosen der Tubuli contorti. Mit zunehmender Fütterungszeit treten immer reichlicher braune Pigmentgranula in den Zellen der Tubuli contorti und der Zwischenstücke sowie auch perivasal im Interstitium und vereinzelt im Kapselraum der Glomerula hervor. Die Tubuli sind dilatiert und bieten eine erhebliche Aufstauung einer eiweißreichen Flüssigkeit, die sich auch im weiten Kapselraum zahlreicher Glomerula findet. Daneben beherrschen trübgeschwollene Tubulusepithelien und über große Strecken nackte Tubuli, deren nekrobiotische Zellen zum Teil noch frei im Lumen

Eine überaus reichliche Pigmentablagerung kommt intra- und extracellulär in der *Milz* sowie in den Kupfferschen Sternzellen der *Leber* ohne begleitende Parenchymenschädigung zur Darstellung. Nur bei einzelnen Tieren treten disseminierte Einzelzell- und Gruppenzellnekrosen der Leber auf. Ferner lassen sich deutliche teils körnige, teils schollige Pigmentablagerungen im Interstitium der *Lungenalveolen*, im Stroma der *Darmzotten* — auch nach Absetzung der Prontosilmedikation — und im *Knochenmark* nachweisen.

Somit gelang es durch hochdosierte Prontosilverfütterung bei Albinoratten eine experimentelle Pigmentose sowohl der Muskulatur als auch zahlreicher anderer Organe zu erzeugen, die sich beim Vergleich der makro- und mikroskopischen Befunde der Ratten mit denen der menschlichen Parenchyme als überraschend gleichartig erweist (s. Tabelle 1).

3. Pigmentanalyse

1. Wir prüften das Verhalten und die Eigenschaften des Pigmentes sowohl der menschlichen als auch der tierischen Organe, insbesondere das der Skeletmuskulatur, mit *mikro- und histochemischen sowie fluorescenzmikroskopischen*

Tabelle 1. *Vergleichende Übersicht und Stärkegrad der Pigmentierung verschiedener Parenchyme bei Mensch und Ratte*
(+ = Stärkegrad)

Organe	Mensch	Ratte
Muskulatur	+++++	+++++
Gehirn	++	++
Leber	++	++
Milz	(+)	+++++
Niere	+	++
Lunge	(+)	++
Darm	+++	+
Herz	+	+++

Tabelle 2. *Übersicht des morphologischen, mikro- und histochemischen sowie fluorescenzmikroskopischen Verhaltens des Pigmentes der Muskulatur bei Mensch und Ratte*
(Verwendet wurden Frischpräparate, Nativ-, Gefrier- und Paraffinschnitte)

	Mensch	Ratte
<i>Morphologisches Verhalten</i>		
braune bis schwarzbraune, teilweise konglomerierte Körnchen von 1—2 μm Ø		braune bis dunkelbraune, teilweise konglomerierte Körnchen von 0,5—2,0 μm Ø
<i>Mikrochemisches Verhalten</i>		
gegen Säuren (HCl, H_2SO_4 , HNO_3 , CH_3COOH) verschiedener Konzentration	unlöslich und unverändert	unlöslich und unverändert
gegen Laugen (NaOH, KOH, NH_4OH) verschiedener Konzentration	unverändert	unverändert
gegen Bleichungsmittel (H_2O_2 , Antiformin) verschiedener Konzentration	erst nach 48—72 Std geringe Bleichung	erst nach 48—72 Std geringe Bleichung
gegen Fettlösungsmittel (Alkohol, Äther, Azeton, Benzol, Chloroform, Petroläther)	unlöslich	unlöslich
<i>Histochemisches Verhalten</i>		
gegen Fettfarbstoffe (Sudanrot, Sudan-schwarz)	negativ	negativ
gegen basische Farbstoffe (Nilblau, Neutralrot)	negativ	negativ
Silberimprägnation (MASSON-HAMPERL)	negativ	negativ
Berliner-Blau-Reaktion, Turnbull-Blau-Reaktion	negativ	negativ
Lepehne-Reaktion	negativ	negativ
PAS-Reaktion	negativ	negativ
Autofluorescenz (UV- und Blaulicht)	keine	keine

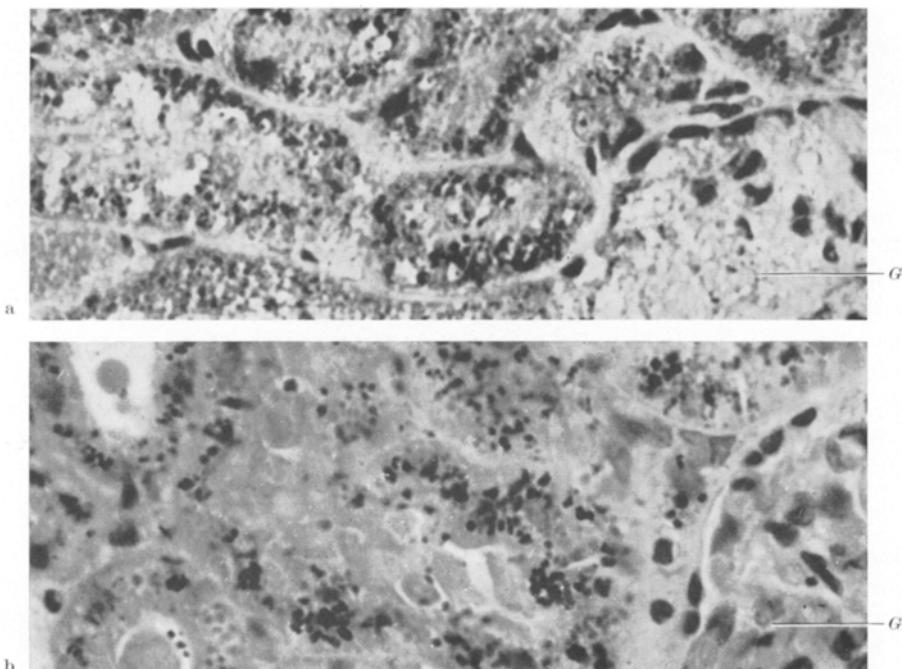


Abb. 7 a u. b. Nieren (Ratte). HE., 680 \times . Akute Sulfonamidnephrose und diffuse granuläre Pigmentierung der Tubulusepithelien. a Körniger Zerfall der Tubulusepithelien und Glomerulonephrose nach 30tägiger Prontosilfütterung; b Tubulonekrose und -rhexis nach 60tägiger Prontosilfütterung. G Glomerulum

Untersuchungsmethoden, deren Resultate die Tabelle 2 veranschaulicht. (Dabei lassen wir die eindeutig als lipo- und hämogen identifizierbaren Pigmente unberücksichtigt.)

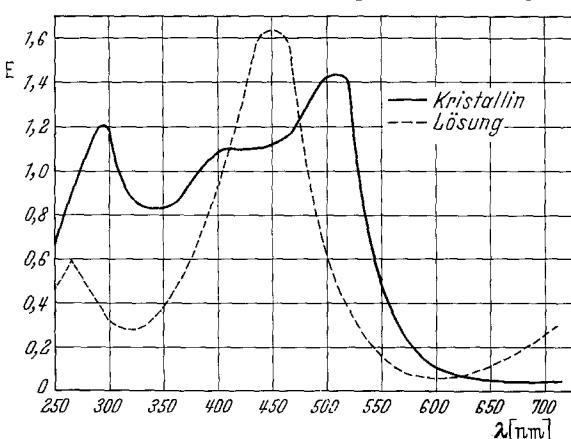


Abb. 8. Extinktionsdiagramm von gelöstem und kristallinem Prontosil (s. auch Text)

cierende und sudanophile Farbkörnchen in den Parenchymen erkennen lassen, finden sich solche, die eindeutig als Lipofuscin zu verifizieren sind, neben dem zur Untersuchung stehenden Pigment reichlich und manchmal vorherrschend in den menschlichen Organen wie Myokard, Leber und Gehirn (Ganglienzellen).

Grundsätzlich verhält sich auch das in allen übrigen Organen bei Mensch und Ratte gefundene Pigment morphologisch, mikro- und histochemisch sowie auch hinsichtlich der Autofluoreszenz analog. Jedoch lassen sich in Milz, Niere, Lunge und Leber außerdem mehr oder weniger reichlich braune Pigmentkörnchen nachweisen, die eisenpositiv sind. Während die Rattenparenchyme keinerlei autofluores-

2. Zur Klärung der Art des Farbstoffes sowie zur endgültigen Identifizierung der bei Mensch und Ratte abgelagerten Pigmente führten wir *mikrospektrophotometrische Messungen*¹ an einzelnen Pigmentkörnchen der Muskulatur von Mensch und Ratte sowie der Schilddrüse des Menschen durch.

Ungefärbte Paraffinschnitte wurden auf Quarzobjektträger montiert und mit Celodal (SCHÖNFELD und TAPPERT 1961), einem UV-Strahlen von 400—230 nm hundertprozentig durchlassenden Einschlußmittel, eingedeckt. Mittels der Zeiss-Spiegeloptik (Objektiv 20/0,45 bzw. 40/0,65 und Kondensor n. A. 0,4 bzw. 0,6) wurde gegen eine Wasserstofflampe bei einem Meßfeld von 1—5 Quadratmikrometer gemessen. Vergleichsweise wurde jeweils ein pigmentfreier Gewebsabschnitt mitgemessen. Außerdem bestimmten wir das Extinktionsdiagramm des kristallinen und gelösten Prontosils.

Messung des Prontosils (Abb. 8). Gelöstes, in einer Quarzuvette gemessenes Prontosil gibt eine hohe Extinktion mit einem ersten Maximum um 450 nm neben einem wesentlich schwächeren zweiten Maximum bei 265 nm. Einen völlig andersartigen Extinktionsverlauf bietet dagegen kristallines, in Glycerin eingedecktes Prontosil. Hier liegt ein hohes erstes Maximum bei 510 nm und ein zweites, annähernd gleich hohes Maximum bei 295 nm.

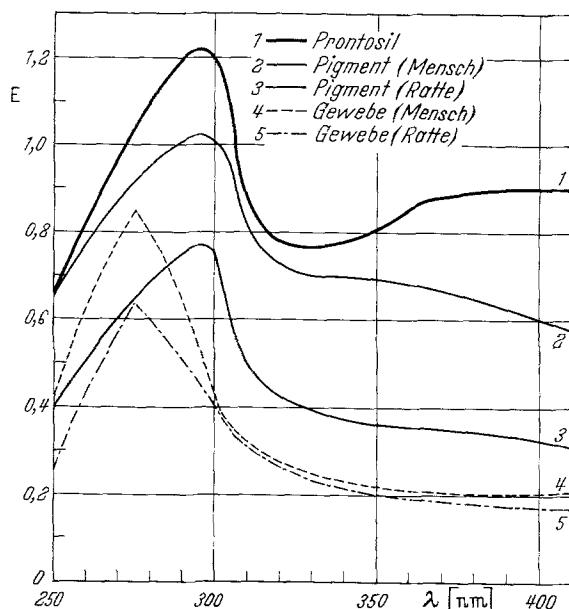


Abb. 9a. Extinktionsdiagramm des Prontosils, des Pigmentes und des Muskelgewebes (s. auch Text)

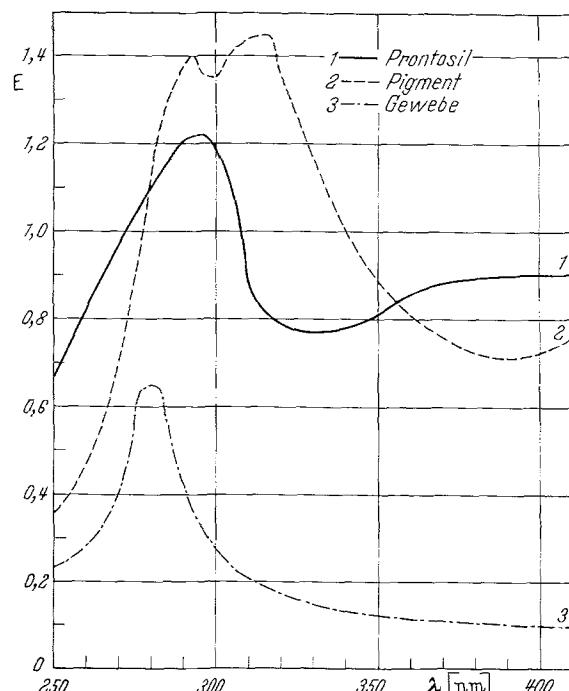


Abb. 9b. Extinktionsdiagramm des Prontosils, des Pigmentes und des Schilddrüsengewebes (s. auch Text)

¹ Die Messungen wurden im Mikrolaboratorium des VEB Carl Zeiss, Jena, mit dankenswerter Unterstützung der Herren Dr. L. OTTO und Optikermeister K. RÖSSLER vorgenommen.

Messung des Muskelpigmentes von Mensch und Ratte (Abb. 9a): Im Bereich des sichtbaren Lichtes von 420—700 nm bietet das Pigment keine verwertbare Extinktion. Insbesondere ergibt sich kein Anhalt für Met- oder Sulfhämoglobin, Melanin und Porphyrin. Besonderheiten lassen sich nur im UV-Bereich zwischen 250 und 400 nm registrieren. Konstant ergeben sämtliche Messungen an pigmentfreien Gewebsabschnitten der Muskulatur von Ratte und Mensch ein einziges, den Eiweißsubstanzen zugehörendes Extinktionsmaximum um 275 nm. Gleichfalls konstant zeigen alle Messungen am Pigment von Ratte und Mensch ein hohes Extinktionsmaximum um 295 nm.

Messung an der Schilddrüse des Menschen (Abb. 9b). Während pigmentfreies Schilddrüsenepithel eine deutliche Extinktion mit dem Maximum bei 280 nm aufweist (Tyrosin und Tryptophan), lässt das im Kolloid abgelagerte schollige Pigment eine sehr hohe Extinktion mit zwei Maxima bei 316 nm und bei 292 nm erkennen. Der Kurvenverlauf ähnelt zwar dem des Kolloids, jedoch durch die Höhe der Extinktion und die Verschiebung des zweiten Maximums auf 292 nm unterscheidet er sich wesentlich vom Schilddrüsenkolloid, dessen Maxima bei 280 nm und um 320 nm (Thyroxin und Dijodtyrosin) gelegen sind (SANDRITTER 1958).

Diskussion

1. *Toxisch-degenerative Parenchymenschädigungen nach Sulfonamidgaben* sind klinisch wie auch experimentell nur selten beschrieben worden und waren dann meist geringfügig. Eine Ausnahme macht die von CLINE (1938) beobachtete akute gelbe Leberdystrophie bei einem jungen Gonorrhöiker nach zusätzlicher Selbstbehandlung mit Sulfanilamid. Weiterhin sind Sulfonamidschädigungen der Nieren in Form von akuten Nephrosen, anaphylaktischen Glomerulonephritiden, interstitiellen Nephritiden und sog. „Kristallnieren“ in letzter Zeit besonders hervorgehoben worden (BILECKI 1947; RÖLLINGHOFF 1949; AUGUSTIN 1950, 1951; HEUCHEL 1950; LOEBENSTEIN 1950; KRAUTWALD, DUTZ und VOIGT 1957; SCHOENEMANN 1961 u. a.). Auch unsere Versuchstiere zeigten fast ausnahmslos eine akute bis subakute Nephrose, die bei mehreren Tieren zur unmittelbaren Todesursache wurde. Im Gegensatz dazu boten die Nieren des Patienten keine sicher auf Sulfonamidschädigung zu beziehenden Veränderungen.

Die bei einzelnen Ratten beobachteten Lebernekrosen sehen wir nicht als signifikanten Ausdruck einer Sulfonamidschädigung an, da sie, wie es auch von DOMAGK (1944) beschrieben wird, ebenfalls häufig bei Vergleichstieren sporadisch auftreten.

ALBERT (1955) rechnet Prontosil rubrum zu den cancerogenen Stoffen und konnte nach langdauernder Prontosilfütterung die Entstehung von Lungengadenomen beobachten. In Übereinstimmung mit DOMAGK (1944) vermochten wir keine tumorösen Veränderungen an den Organen der Versuchstiere festzustellen.

HAWKING (1937) sah nach toxischen Dosen von Prontalbin bei gestorbenen Tieren (Katzen und Kaninchen) leichte dystrophische Veränderungen an den Nervenzellen des Gehirns und Rückenmarkes. Unsere Ratten weisen ebenfalls, besonders mit zunehmender Versuchsdauer, an den Ganglienzellen des Groß- und Kleinhirns Degenerationserscheinungen in Form von Zellverklumpungen und Neuronophagie auf. Am menschlichen Gehirn sind diese Veränderungen weniger ausgesprochen.

Gegenüber den nach Verabreichung letaler Sulfonamiddosen von DOMAGK (1944) am Tiermuskel beobachteten Faserdegenerationen kennzeichnen sich die von uns experimentell an der gesamten Skelettmuskulatur ausgelösten Veränderungen als eine im Vordergrund stehende chronische *progressive Muskeldystrophie*.

Ungeklärt bleibt die Tatsache, warum lediglich die mit Sarkolemm ausgestattete Muskulatur (im Gegensatz zum Myokard und zum glatten Muskelgewebe) betroffen ist.

Die fast ausnahmslos bei den Versuchstieren zu verzeichnende Sulfonamidnephrose legt den Gedanken nahe, die Muskelveränderungen im Rahmen einer chronischen Urämie zu sehen. Aber nicht nur Ausmaß und Schwere der Muskeldystrophie sprechen unseres Erachtens gegen eine derartige Auslegung, sondern auch die gleichartige Skelettmuskenschädigung des Patienten, der nie urämische Symptome oder Befunde geboten hat.

Unter Sulfonamidmedikation auftretende Neuritiden peripherer Nerven sind sowohl vereinzelt bei Patienten als auch des öfteren, besonders bei letalen Dosen, im Tierexperiment gesehen worden (BIETER u. Mitarb. 1941, LITTLE 1942). Allerdings werden diese Befunde nicht ausnahmslos (HÜLLSTRUNG und KRAUSE 1938) als Neuritis gedeutet, sondern mit einer primären Schädigung des Vitamin B-Stoffwechsels durch die Sulfonamide in Zusammenhang gebracht, wofür auch die Verhütung peripherer Neuritiden durch prophylaktische Vitamin B₁-Gaben sprechen soll (ENGELHARDT und HÜLLSTRUNG 1939, BÖSZÖRMÉNYI und MÉSZÁROS 1943).

Wir konnten uns weder beim Patienten noch bei den Versuchstieren von einer entzündlichen oder toxisch-degenerativen Alteration peripherer Nerven überzeugen. Auch das Rückenmark des Patienten bot keine derartigen Befunde. Somit können wir die vorliegenden dystrophischen Muskelveränderungen nicht als spinale oder neurale Atrophie mit entdifferenzierendem oder degenerativem Charakter deuten, sondern müssen sie — auch dem pathomorphologischen Bild entsprechend — als Ausdruck einer primären toxischen Schädigung werten.

Eine primäre funktionelle oder metabolische Schädigung der Zelle infolge der beträchtlichen Pigmentanhäufung ist wenig wahrscheinlich, zumal beispielsweise die Skelettmuskulatur der Ratten bereits degenerative Veränderungen vor der nachweisbaren Pigmentierung erfährt.

2. Die am Obduktionsfall beobachtete Verfärbung, besonders der Skelettmuskulatur und des Gehirns, erwies sich histomorphologisch als eine *granuläre braune Pigmentose* mit vorwiegend intracellulärer Lokalisation. Diese Art der Pigmentierung mit Bevorzugung der quergestreiften Muskulatur stellt einen exzptionellen Befund dar und ist unseres Wissens noch nicht beschrieben worden. Weder mikro- und histochemisch noch fluoreszenzmikroskopisch ließ sich ein Anhalt für eines der bekannten endogenen (hämogenen, proteinogenen und lipogenen — einschließlich der bei Vitamin E-Mangel auftretenden —) Pigmente gewinnen.

Der von vornherein naheliegende Gedanke an eine exogen induzierte Pigmentierung stand damit außer Frage.

Im *Tierversuch* gelang es, mittels hochdosierter und langfristiger Prontosilverfütterung eine im makro- und mikroskopischen Bild dem Sektionsfall analoge Pigmentierung zu reproduzieren, wobei mikro- und histochemische sowie fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen ein übereinstimmendes Verhalten der Pigmente bei Ratte und Mensch offenbarten. Damit ist ein *Zusammenhang zwischen Prontosilmedikation einerseits und der beobachteten Pigmentierung andererseits augenscheinlich*.

Als ungewöhnlich ist die Tatsache zu vermerken, daß nicht einzig das für Speicherungen disponierte RES im weitesten Sinne das Pigment ablagert,

sondern daß vorwiegend die quergestreifte Muskulatur und die Ganglienzellen pigmentbeladen sind. Eine Erklärung für die Bevorzugung dieser beiden Zellarten vermögen wir nicht zu geben, möchten sie jedoch mit der besonderen Stoffwechselsituation in Muskelfasern und Ganglienzellen in Zusammenhang bringen.

Bezüglich der Pigmententstehung ist vorauszuschicken, daß bekanntlich durch einige Sulfonamide, insbesondere durch Sulfanilamid (Prontosil album, Prontalbin), chemische Veränderungen des Blutfarbstoffes in Form von Methäoglobin-, Sulfhämoglobin- und Porphyrinbildung herbeigeführt werden, die mit allgemeiner Organverfärbung oder -pigmentierung einhergehen (HEUBNER 1940, 1943; HEUBNER und KIESE 1947). Wir konnten uns jedoch spektroskopisch, spektrophotometrisch und fluoreszenzmikroskopisch nicht von dem Vorhandensein solcher Veränderungen überzeugen. Auch eine quantitative Schwefelgehaltsbestimmung der menschlichen Skelettmuskulatur zeigte keine signifikante Erhöhung gegenüber normalem Muskelgewebe.

Eingehende UV-mikrospektrophotometrische Untersuchungen an einzelnen Pigmentkörnchen von Mensch und Ratte ergaben dagegen interessante und für die Genese der Pigmentose aufschlußreiche Befunde:

a) *Identität* des Muskelpigmentes des Sektionsfalles mit dem durch Prontosil-verfütterung bei Ratten erzeugten Pigment.

b) *Kongruenz* der Extinktionsmaxima von Pigment und kristallinem Prontosil im UV-Bereich.

Eine Identität von Pigment und reinem Prontosil rubrum halten wir jedoch für unwahrscheinlich, zumal die Extinktionsdiagramme beider Substanzen im Bereich des sichtbaren Lichtes nicht übereinstimmen. Vielmehr sind wir der Auffassung, daß infolge einer Ausscheidungsstörung des Prontosils bei dem enormen Überangebot ein aus der kolloidalen in die sichtbare granuläre Form umgewandeltes und unter Umständen an Eiweiß gebundenes *Um- bzw. Abbauprodukt des Prontosils als Pigment in Erscheinung tritt*.

3. Unsere Befunde stehen im scheinbaren Gegensatz zu den Untersuchungsergebnissen anderer Autoren (HAGEMAN 1937, MOLITOR und ROBINSON 1939, DOMAGK 1944 u. a.), die bei Prontosilfütterungsversuchen niemals derartige Pigmentierungen erwähnen.

Zwar treten nach jeder Prontosilmedikation schon äußerlich an Haut und Nägeln sichtbare Gelbverfärbungen auf (DOMAGK 1936), die auch wir an Haut und Haaren der Versuchstiere beobachten konnten. Ein granuläres Farbstoffsubstrat ließ sich in der Haut jedoch nicht erfassen, so daß es sich hierbei um eine *Diffusfärbung* handeln muß. VON KLEISS (1949) wurde mit dem zu den Azofarbstoffen gehörenden Prontosil Vitalfärbungen erzielt, die mit der Ausscheidung des Farbstoffes wieder zurückgingen; allerdings liegen nur makroskopische und colorimetrische Bewertungen vor. Lediglich RMINTON und HEMMINGS (1938) fanden nach 30tägiger Sulfanilamidfütterung bei Ratten eine dunkelbraune Verfärbung des Tierkadavers und konnten in Leber, Milz und Nieren eisennegative braune Pigmente nachweisen, die sich allerdings fluoreszenzmikroskopisch eindeutig als Porphyrin erwiesen. Eine auf die Sulfonamidmedikation zurückzuführende und auch von uns beobachtete Hämolsiderose, vor allem der Milz, wird im Schrifttum gelegentlich erwähnt (HAGEMAN 1937, NELSON 1939).

Tierexperimentelle Prüfungen der Sulfonamide hinsichtlich ihrer Toxicität wurden von der Mehrzahl der Autoren jedoch nur über kürzere Zeiträume (häufig nur wenige Tage) bei einer Dosierung von maximal 0,5—0,7 g/kg Körpergewicht

pro Tag durchgeführt, so daß sich die von uns aufgezeigten Befunde in erster Linie durch die wesentlich höhere Dosierung von 1,0—1,5 g/kg Körpergewicht/Tag und besonders durch die erheblich längere Versuchsdauer ergeben.

Entsprechende Verhältnisse lagen auch bei unserem Patienten vor, der in sinnwidriger Weise über fast zwei Jahrzehnte seine chronische Gonorrhoe mit offensichtlich großen Mengen Prontosil rubrum zu behandeln versuchte. Aus diesem besonderen, wohl einmaligen Umstand resultiert die Aufdeckung einer weiteren, bisher unbekannten Nebenwirkung der chemotherapeutischen Substanz Prontosil und erhellt zugleich die Bedeutung von sog. „chronischen Verträglichkeitsversuchen“ (DOMAGK 1944) über große Zeiträume und mit höchsten Dosierungen.

Zusammenfassung

Bei einem Gonorrhöiker, der sich nahezu 20 Jahre lang mit Prontosil rubrum behandelte, konnte autopsisch eine schwarz-braune, generalisierte, granuläre Pigmentose, besonders der Skeletmuskulatur und des Gehirns, beobachtet werden. *Tierexperimentell* ließ sich eine dem Sektionsfall analoge Pigmentose durch hochdosierte und langfristige Prontosilverfütterung an Ratten reproduzieren. *Mikrospektrophotometrische Messungen* bewiesen die Identität des Pigmentes von Mensch und Ratte und ergaben zudem im UV-Bereich eine Kongruenz der Extinktionsmaxima von Prontosil rubrum und Pigment. Ausgeprägte *progressive Dystrophien* der Skeletmuskulatur sowohl des Patienten als auch der Ratten und degenerative Veränderungen der cerebral Ganglienzellen, sowie die Sulfonamidnephrose der Versuchstiere werden als Ausdruck einer primären toxischen Schädigung gewertet.

Summary

At autopsy a *generalized black-brown granular pigment* was found in a patient who had treated himself for almost 20 years with prontosil rubrum because of gonorrhœa. The skeletal muscles and brain were especially pigmented. Chronic administration of large doses of *prontosil to rats* produced a pigmentation in them similar to that found at the autopsy. *Microspectrophotometric measurements* proved the identity of the pigment from the patient and from the rats. A congruence of the extinction maxima of prontosil rubrum and the pigment was shown in the UV range. Marked *progressive dystrophies* of the skeletal musculature in the patient as well as in the rats, and degenerative changes of the cerebral ganglion cells, and a sulfonamide nephrosis in the experimental animals were interpreted as manifestations of a primary toxic effect.

Literatur

- ALBERT, Z.: Erzeugung von Lungenadenomen bei Mäusen durch verlängerte Fütterung mit Prontosil rubrum. *Pat. pol.* **6**, 77—81 (1955). *Ref. Ber. allg. spez. Path.* **28**, 13 (1955).
- AUGUSTIN, E.: Der histochemische Sulfonamidnachweis in parenchymatösen Organen, insbesondere der Niere. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* **10**, 289—300 (1950).
- Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Entstehung und Lokalisation von Nierenschädigungen nach Sulfonamidmedikation. *Arch. Gynäk.* **179**, 220—242, 311—330, 401—433 (1951).
- BIETER, R. N., A. B. BAKER, J. G. BEATON, J. M. SHAFFER, TH. M. SEERY and B. A. ORR: Nervous injury produced by sulfanilamide. *J. Amer. med. Ass.* **116**, 2231—2236 (1941).
- BILECKI, G.: Die Sulfonamidnephrose. *Z. ges. inn. Med.* **1947**, 722—728.

- BÖSZÖRMÉNYI, Z., u. A. MÉSZÁROS: Zur Frage der durch Sulfonamidderivate verursachten experimentellen Nervenschädigungen. *Wien. med. Wschr.* **1943**, 390f.
- CLINE, E. W.: Acute yellow atrophy of the liver following sulfanilamide medication. *J. Amer. med. Ass.* **111**, 2384f. (1938).
- DOMAGK, G.: Chemotherapie der Streptokokkeninfektionen. *Klin. Wschr.* **15**, 1585—1590 (1936).
- Toxikologie. In DOMAGK-HEGLER, Chemotherapie bakterieller Infektionen, 3. Aufl. Leipzig: S. Hirzel 1944.
- ENGELHARDT, W., u. H. HÜLLSTRUNG: Die Verhütung lähmungähnlicher Erscheinungen bei ulirongefütterten Tauben durch Vitamin B₁. *Klin. Wschr.* **18**, 774f. (1939).
- HAGEMAN, P. O.: Toxicity of sulfanilamide. A study of the pathological lesions in white mice. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **37**, 119—122 (1937).
- HAWKING, F.: Pharmacological actions of sulphanilamide. *Lancet* **1937 I**, 1019f.
- HEUBNER, W.: Chemotherapie von Infektionskrankheiten. *Klin. Wschr.* **19**, 265—269, 289—293 (1940).
- Toxikologie der Sulfonamide. *Dtsch. med. Wschr.* **69**, 385—390 (1943).
- , u. M. KIESE: Die Cyanose bei der Behandlung mit Sulfonamiden. *Schweiz. med. Wschr.* **77**, 1337f. (1947).
- HEUCHEL, G.: Über die Pathogenese des Sulfonamid-Nierensyndroms. *Ärzt. Forsch.* **4**, 629—640 (1950).
- HÜLLSTRUNG, H., u. FR. KRAUSE: Polyneuritis nach sulfonamidhaltigen Verbindungen bei Menschen und Tauben. *Dtsch. med. Wschr.* **64**, 114—116, 1213—1217 (1938).
- KLEISS, E.: Zur Frage der Vitalfärbung mit Prontosil. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* **207**, 14—28 (1949).
- KRAUTWALD, A., H. DUTZ u. K. VOIGT: Verlauf und histologische Veränderungen der experimentellen Nephritis bei Ratten unter Einwirkung von Sulfapyridin und Sulfadimethylpyrimidin. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak.* **231**, 455—463 (1957).
- LITTLE, S. C.: Nervous and mental effects of the sulfonamides. *J. Amer. med. Ass.* **119**, 467—474 (1942).
- LOEBENSTEIN, H.: Beitrag zur Kenntnis der Anurie und Urämie durch Sulfonamidschädigung. *Wien. klin. Wschr.* **62**, 525 (1950).
- MOLITOR, H., and H. ROBINSON: Some pharmacological and toxicological properties of sulfanilamide and benzylsulfanilamide. *J. Pharmacol. exp. Ther.* **65**, 405—423 (1939).
- NELSON, A. A.: Histopathological changes in hens and rabbits following administration of sulfanilamide and sulfamyl sulfanilamide (di-sulfanilamide). *Publ. Hlth Rep. (Wash.)* **54**, 106—127 (1939).
- RIMINGTON, C., and A. W. HEMMINGS: Porphyrinuria following sulphanilamide: sulfphanilamide dermatitis. *Lancet* **1938 I**, 770—776.
- RÖLLINGHOFF, W.: Allergische Nierenschädigung durch Sulfonamide. *Klin. Wschr.* **27**, 553—558 (1949).
- SANDRITTER, W.: Ultraviolettmikrospektrophotometrie. In *Handbuch der Histochemie*, Bd. 1/1. Stuttgart: Gustav Fischer 1958.
- SCHOENEMANN, J.: Perakute anaphylaktische Glomerulonephritis in Kombination mit erythrolytischer Nephrose nach 2,4-Diamino-azobenzol-N⁴-sulfanilamid (Prontosil). Allergie u. Asthma **7**, 124—129 (1961).
- SCHÖNFELD, CHR., u. J. TAPPERT: Celodal als Einschlußmittel für ultraviolet-mikroskopische Dauerpräparate. *Z. med. Labortechnik* **2**, 93—99 (1961).

Dr. H. SCHILL u. Dr. W. BOSTELMANN,
Institut für Allgemeine und Spezielle Pathologie
der Universität Rostock, Strempelstr. 14